

**PHARMACEUTICAL PREPARATION FOR EYE FOR USING IT AS ARTIFICIAL TEAR**

Publication number: JP8169835 (A)

Publication date: 1996-07-02

Inventor(s): AMARIO KANTORO +

Applicant(s): MEDIDOM LAB [CH] +

Classification:

- international: **A61K31/715; A61K31/728; A61K33/06; A61K33/14; A61K33/42; A61K9/00; A61K9/08; A61P27/02; A61P27/04; A61K31/715; A61K31/726; A61K33/06; A61K33/14; A61K33/42; A61K9/00; A61K9/08; A61P27/00; (IPC1-7); A61K31/725; A61K33/06; A61K33/14; A61K33/42; A61K9/08**

- European: A61K9/00M16

Application number: JP19950208426 19950724

Priority number(s): IT1994RM00485 19940725

## Also published as:

JP37953105 (B2)

EP0698388 (A1)

EP0698388 (B1)

ZA9506165 (A)

US5770628 (A)

more &gt;&gt;

## Abstract of JP 8169835 (A)

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a composition capable of accurately maintaining nonNewtonian flow characteristics even in the presence of a salt and a bivalent cation, thickened so as to be used as artificial tear. SOLUTION: This ophthalmic preparation contains 0.05-2 wt.% of hyaluronic acid as a viscosity thickener and the following minimum quantities of ion species except sodium ion contained in the hyaluronic acid: 40 mmol/L of sodium ion, 12 mmol/L of potassium ion, 0.4 mmol/L of calcium ion, 0.4 mmol/L magnesium ion, 50 mmol/L chlorine ion and 7 mmol/L phosphate ion and water and is useful as artificial tear.

Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-169835

(43)公開日 平成8年(1996)7月2日

|                          |      |        |     |        |
|--------------------------|------|--------|-----|--------|
| (51)Int.Cl. <sup>5</sup> | 識別記号 | 序内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
| A 6 1 K 31/725           | ABL  | V      |     |        |
| 9/08                     |      |        |     |        |
| 33/06                    |      |        |     |        |
| 33/14                    |      |        |     |        |
| 33/42                    |      |        |     |        |

審査請求 未請求 請求項の数16 FD (全 14 頁)

|             |                      |         |  |
|-------------|----------------------|---------|--|
| (21)出願番号    | 特願平7-208426          | (71)出願人 | 595118009<br>ラボラトワレ メディドム エス. エー.<br>スイス国 12 ジュネーブ シーエイチ<br>1211 アベニューデ シャンペル 24 |
| (22)出願日     | 平成7年(1995)7月24日      | (72)発明者 | アマリオ カントロ<br>イタリア国 40100 ボローニヤ ピア<br>ロツソリノ ピロ 23                                 |
| (31)優先権主張番号 | RM 9 4 A 0 0 0 4 8 5 | (74)代理人 | 弁理士 舛田 敏三  |
| (32)優先日     | 1994年7月25日           |         |  |
| (33)優先権主張国  | イタリア (I T)           |         |  |

(54)【発明の名称】 人工涙として使用するための眼用製剤

(57)【要約】

【課題】 塩および正確には二価の陽イオンの存在下でも非ニュートン流れ特性を維持できる、人工涙として使用するための増粘された組成物を提供すること。

【解決手段】 粘度増加剤としてヒアルロン酸塩を0.05-2重量%の濃度で含み、加えて該ヒアルロン酸塩に含まれるナトリウムイオンを除いて次の最少限量のイオン種: 4.0ミリモル/1のナトリウムイオン、1.2ミリモル/1のカリウムイオン、0.4ミリモル/1のカルシウムイオン、0.4ミリモル/1のマグネシウムイオン、5.0ミリモル/1の塩素イオンおよび7ミリモル/1のりん酸イオン、並びに水を含む人工涙として用いる眼用製剤。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 粘度増加剤としてヒアルロン酸塩を0.05-2重量%の濃度で含み、加えて該ヒアルロン酸塩に含まれるナトリウムイオンを除いて次の最少限量のイオン種: 4.0ミリモル/1のナトリウムイオン、1.2ミリモル/1のカリウムイオン、0.4ミリモル/1のカルシウムイオン、0.4ミリモル/1のマグネシウムイオン、5.0ミリモル/1の塩素イオンおよび7ミリモル/1のりん酸イオン、並びに水を含むことを特徴とする

|                  |                |                     |                  |
|------------------|----------------|---------------------|------------------|
| $\text{Na}^+$    | 40-95 ミリモル/1   | $\text{Cl}^-$       |                  |
| $\text{K}^+$     | 12-28 ミリモル/1   | $\text{HPO}_4^{2-}$ | 7-20 ミリモル/1      |
| $\text{Ca}^{2+}$ | 0.4-1.5 ミリモル/1 | クエン酸塩               | 0.7 ~ 2.5 ミリモル/1 |
| $\text{Mg}^{2+}$ | 0.4-1.0 ミリモル/1 | ヒアルロン酸塩             | 0.05 ~ 2 重量%     |

【請求項5】 さらに少なくとも7ミリモル/1の酢酸イオンを含むことを特徴とする請求項1記載の製剤。

【請求項6】 さらに少なくとも5ミリモル/1の重炭酸イオンを含むことを特徴とする請求項1記載の製剤。

【請求項7】 さらに少なくとも1ミリモル/1のEDTAを含むことを特徴とする請求項1記載の製剤。

【請求項8】 前記ヒアルロン酸塩が、分子量50,000-4,000,000ダルトンのヒアルロン酸ナトリウムであることを特徴とする請求項1記載の製剤。

【請求項9】 低張性であり、容量オスマル濃度1.40

|  | mg/100ml | ミリモル/1 |
|--|----------|--------|
| ヒアルロン酸ナトリウム  | 250      | ≒ 6. 2 |
| $\text{NaCl}$  | 279. 2   | 47. 77 |
| $\text{KCl}$   | 103. 3   | 13. 85 |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ | 322. 2   | 9. 0   |
| Na <sub>3</sub> クエン酸塩                                | 26. 0    | 1. 05  |
| $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$            | 9. 2     | 0. 45  |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$            | 6. 9     | 0. 6   |

pH = 7.32および容量オスマル濃度 = 150mosm/m<sup>1</sup>

【請求項13】 眼用製剤に含まれるナトリウムイオンの全量が4.0-9.5ミリモル/1であることを特徴とする請求項1記載の眼用製剤。

【請求項14】 人工涙として用いるための製剤であることを特徴とする請求項1~12のいずれか1つに記載の眼用製剤。

【請求項15】 該人工涙が、乾性角結膜炎の治療または眼の刺激の治療に用いられることを特徴とする請求項13記載の眼用製剤。

【請求項16】 眼の刺激が、環境条件またはコンタクトレンズにより起こされるものであることを特徴とする請求項14記載の眼用製剤。

【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、人工涙として使用するための眼用製剤に関する。より正確には、本発明は、乾性角結膜炎または乾燥眼症候群として知られる涙

人工涙として用いる眼用製剤。

【請求項2】 少なくとも0.7ミリモル/1のキレート化物質をさらに含むことを特徴とする請求項1記載の製剤。

【請求項3】 前記キレート化物質が、クエン酸塩であることを特徴とする請求項2記載の製剤。

【請求項4】 該ヒアルロン酸塩に含まれるナトリウムイオンを除いて次のイオン種を次の濃度で含むことを特徴とする請求項3記載の製剤。

|              |                  |
|--------------|------------------|
| 50-150ミリモル/1 |                  |
| 7-20ミリモル/1   |                  |
| クエン酸塩        | 0.7 ~ 2.5 ミリモル/1 |
| ヒアルロン酸塩      | 0.05 ~ 2 重量%     |

-280mosm/lを有することを特徴とする請求項1記載の製剤。

【請求項10】 剪断速度2秒<sup>-1</sup>で粘度10.0-20.0cPs、剪断速度1000秒<sup>-1</sup>で粘度10.0-5cPsを有することを特徴とする請求項1記載の製剤。

【請求項11】 pH 6.8-7.6を有することを特徴とする請求項1記載の製剤。

【請求項12】 次の組成を有することを特徴とする請求項4記載の製剤。

ヒアルロン酸ナトリウム 250  
 $\text{NaCl}$  279. 2  
 $\text{KCl}$  103. 3  
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  322. 2  
 Na<sub>3</sub>クエン酸塩 26. 0  
 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  9. 2  
 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  6. 9

mg/100ml ミリモル/1

≒ 6. 2

47. 77

13. 85

9. 0

1. 05

0. 45

0. 6

眼病(tear film disease)の治療で結膜囊に点滴するためと、一般的には、例えば環境の条件によりもしくはコンタクトレンズによりおこされる眼の刺激の治療のために、人工涙の使用が推奨されるときに投与されるための水性処方物に関する。

## 【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】 本分野で行われた研究は、涙の膜が:

-結膜杯細胞によりつくられる糖たんぱく質の混合物からなり、角膜表面に吸収されて親水性の膜を形成する内側のムチン層;

-主に水、電解質、たんぱく質、酵素およびムチンからなり、該親水性の膜の上に広がる中間水性層;

-涙膜からの水の蒸発速度を調節することを主な働きとする深い外側の脂質層からなっている複雑な3層構造である証拠を与えていた。該3層構造は、複雑な生理的システムを構成し、その完全な平衡と統続的な再生は、いくつかの因子により確保される。内側のムチン層または中間水性層の異常は、乾燥眼症候群をおこす。実際、該

症状を患っている患者は、涙液膜液体蒸発過剰と、高浸透圧膜をもたらす減少した入れ代わりとを示し、その容量オスモル濃度 (osmolarity) は、通常の値である約  $300 \text{ mOsm/l}$  に対して  $330-340 \text{ mOsm/l}$  にもなる。

【0003】高度に高浸透圧の涙液膜液体は、涙液膜液体の高分子量の糖たんぱく質 (粘液) と電解質との間の不均衡をもたらし、結果として、粘液シグ状結晶形成 (mucus ferning) の現象の不在または減少をもたらす。この点に関して、涙液粘液の最も興味ある物理的な性質の1つは、室温で蒸発により乾燥した時に、シグ状に結晶する能力であることが知られている。シグ状結晶形成は、眼の下方の円蓋からの涙液粘液の収集後のわずかの間に見られる。粘液結晶生成に関与する生化学的プロセスについての明確な説明が与えられているのではないか、上記の現象が、粘液 (ムチン) の高分子量糖たんぱく質と電解質との間の相互作用によりおこされること、および各種のシグ状結晶形成 (タイプI、均一；タイプII、小さいシグと開き空間が多い；タイプIII、部分的；タイプIV、不在) が、正常状態または異常状態にある涙液膜液体に関連づけられることが認められていると考えられる。たとえば、密な分岐は、ムチンと電解質との間の完全な平衡の徵とみなされ、部分的な涙シグ状結晶形成またはその不在 (乾性角結膜炎を患っている眼に検出される) は、涙液粘液の不足または糖たんぱく質の量的な変化またはその環境 ( $\text{pH}$ 、水和、電解平衡) の量的な変化を示す。さらに、涙の高容量オスモル濃度は、ムチン生成杯細胞の数の減少、上皮細胞膜の破壊、細胞表面微小皺 (micorfold) の喪失および剥脱 (exfoliation) の減少を伴う結膜細胞の変性 (degeneration) をおこす。杯細胞減少とムチン不足との原因である該細胞変性は、乾燥眼症候群 (乾燥、刺激、差眼および異物感) のほとんどの臨床的症状および涙膜不安定の原因とみなされている。

【0004】実際は、損傷した内側のムチン層は、涙膜の安定に必須であり、なぜなら、角膜表面の潤滑性を向上させ、流体相の粘度を増加させるからである。ムチンがないか不十分であると角膜は潤滑しなくなり、涙膜は乾燥領域の形成を伴って崩壊するであろう。診断状の見地から、乾燥眼症候群は、それ相応の症状から見分けられるばかりではなく、広く受け入れられた手順、例えば、涙の生成の測定 (シルマー試験)、まばたきの後すなわち完全なまぶたの下降後の涙膜の崩壊時間 (BT) の測定およびローズベンガル (Rose Bengal) とフルオレセンシインによる眼表面の染色の評価の測定により検出され監視され得る。乾燥眼症候群を治療するための製剤の治療特性評価を可能とするほかの客観的な方法は、印象 (impression) (またはインプリント) による細胞学、涙液粘液シグ状結晶形成の試

験および涙液膜液体容量オスモル濃度の測定である。非侵襲性 (noninvasive) で反復可能である該試験の第一は、粘液生成杯細胞の濃度、凝集性、細胞性、核/細胞形成質比の変更を伴う上皮細胞の寸法の変化、細胞層形成の変化および上皮角質化 (あるとして) を示すことにより球状結膜細胞の形態学的な状態の検査を可能とする。上皮角質化は、極めて重要である：実際、細胞学的見地から、乾性角結膜炎の最終の結果の1つは、角質化した非分泌性の上皮への分泌性の上皮の進行性変換である。

【0005】涙液粘液シグ状結晶形成試験は、涙液粘液結晶化のさまざまな面を明らかとし、上記のタイプ (I-IV) に従いそれを分類し、 $\text{mOsm/l}$  として表される涙液膜液体容量オスモル濃度値は、涙中の塩濃度の定量的表示を与える、すでに述べたように、その増加は、涙膜水の増加した蒸発から生じる。涙容量オスモル濃度の値は、検討中にある病理学的状態の客観的パラメーターであると考えてよく、その理由は、該値が病理学的状態では  $30-40 \text{ mOsm/l}$  だけ平均的に増加することがわかっているからである。乾性角結膜炎は、結膜裏に挿入される遅い溶解の (slow-dissolution) 眼用製剤により治療される (しかしながら、これらの製剤は、患者にとって不快な適用でかつ面倒である限り、その適用はまれとなる) ばかりではなく、人工涙として知られる点滴される液体製剤によっても治療される。該人工涙は、乾燥眼症候群の治療に対して正しいアプローチを意味する：その理由は、人工涙は、自然の涙に取って代わり、組織を潤滑させ、角膜上皮表面上の乾燥領域の形成を防ぎ得るからである。最も一般的な商業的な处方の人工涙は、防腐剤と緩衝液に加えて、塩化ナトリウムだけを含む生理学的の溶液であるが、ウサギ單角膜を行った試験は、 $(\text{Na}^+ \text{ および } \text{Cl}^- \text{ イオンに加えて }) \text{K}^+ \text{, } \text{Ca}^{++} \text{, } \text{Mg}^{++} \text{, } \text{HCO}_3^- \text{ および } \text{H}_2\text{PO}_4^- \text{ イオンを含む角膜灌注液が、塩化ナトリウム単独およびリガーラー液よりも上皮細胞剥脱のより注目される減少をおこすことを証明した (W. G. Bacham et al.、角膜上皮表面の維持のための必須のイオン (Essential ions for maintenance of the corneal epithelial surface)、Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 26, 1484-1488, 1985)。$

【0006】人工涙は、特にカリウムイオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオン、塩素イオンおよび重炭酸塩イオンの濃度に関して、可能な限り自然の涙の定性的一定量的な組成を再現するように处方されるべきであることが広く受け入れられている (V. Rismundo et al.、正常なウサギおよびビタミンA不足ウサギの涙液膜液体および涙の電解質組成 (Electrolyte composition of 1

acral gland fluid and tears of normal and vitamin A-deficient rabbits), CLA O. J. 15(3) 222-229, 1989). 特に、高濃度で自然の涙液腺流体に存在するカリウムは細胞間のホメオスタシスを保つナトリウムを補足し

(K. Green et al.、涙のカリウムは角膜の厚さの維持に寄与する (Tear potassium contributes to maintenance of corneal thickness), Ophthalmic Res. 24, 99-102, 1992)。一方、カルシウムおよびマグネシウムは、細胞の付着安定剤である。特に、カルシウムは、細胞運動性およびエンドサイト-シスプロセスでのグリコゲン代謝に関与し (W. Y. Cheung, カルシウムと細胞の動き (Calcium and cell function), 第1巻, Academic Press, New York, 1980)。一方、マグネシウムは、細胞膜透過性 (S. Iwata, プレオキラー涙膜と乾燥眼症候群 (The preocular tear film and dry eye syndrome), in International Ophthalmology Clinics,

F. J. Holly and M. A. Lemp, eds., Little Brown, Mass 第31-32頁, 1973) と細胞凝集 (J. K. Aikawa, 家畜と人の病気とマグネシウムの関係 (The relationship of magnesium to disease in domestic animals and humans), Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1971) に寄与する。

【0007】涙液腺流体に通常存在する電解質の組み合わせを再現するようにした人工涙処方物は、欧州特許第0205279号に開示されている。そのような処方物は、細胞代謝に必須の適当な各種の栄養素を供給するが、これらの処方物は、低分子量の塩を含む水溶液の典型的な欠点を有している、すなわち、その粘度が低い。このことは、該溶液が結膜囊に点滴された際、極端に短い角膜前滞留時間を示し、10-15分毎に点滴されなければならぬ理由となり、これは、それに通常含まれる防腐剤からの眼の組織 (結膜および角膜) に対する有毒作用の原因および患者の要望に沿わない原因となる。該欠点を排除する見地から、高分子量の試薬により、通常は、合成分に基づくまたは天然由来の水溶性ポリマーにより粘度を高めた各種の涙処方物が、医療の実際において導入されている。増粘剤が、ポリビニルアルコール、ポリエチレングリコールおよびこれらの混合物から選択された非イオン系合成ポリマーであるそのような処方物の1つは、米国特許第4,409,205号に開示され

ている。しかしながら、そこに提案されている人工涙処方物は、適当な電解質含量の必要について述べた上記の原理に従うものではない。実際は、上記の特許は、陽イオン塩、特にナトリウム含有塩が最小レベルに保たれると、ある眼用の溶液が、不規則な構造となつた涙液腺流体を正常に戻すのにより大きな効果を有することを記載している。したがって、それにクレームされている溶液は、NaClの当量として表して0.75%未満の塩濃度を有している。

【0008】上記の見解とは別に、実験研究により、人工涙は、高い角膜前滞留時間を有し、同時に、溶液に非ニュートン流れ特性を有する試薬により増粘されたときのみ患者により許容されるということが確立されている: このことは、上記の米国特許に提案されたもののような非イオン系ポリマーの場合は当てはまらない。実際は、すべてのニュートン流体のように、非イオンポリマー試薬により増粘された溶液は、剪断応力が与えられても一定の粘度を保ち、この状態は、まばたきの間の涙液腺流体で起る。反対に、水溶液中の自然の涙液腺流体の塩たんぱく質は、静止している時、すなわち2回の連続するまばたきの間、高い粘度を示し、まばたき中、すなわち剪断応力が与えられている時、非常に低い粘度を示す。非ニュートン流体に典型的であり、特に偽塑性流体に典型的である該流動学的挙動は、一方において、高い角膜前滞留時間をもたらし、他方において、良好な眼の許容性をもたらす。実験的な証拠に従えば、人工涙処方物は、増粘剤としてそれに加えられたポリマー生成物が陰イオン型であるという条件で、非ニュートン流れ特性を示す。この基準に合う例となる処方は、特許出願PCT第84/04681号に記載されている。それに記載されている粘度増加剤は、組成物に対して0.05-0.25重量%で加えられるカルボポール (Carbopol) 型の高分子量カルボキシビニルポリマーである。しかしながら、該処方物は、安定剤、防腐剤、中和剤およびよくましくは塩化ナトリウムを容量オスマル濃度調節剤として含んでいるが、塩類の栄養物質の組み合わせを含んでいない。

【0009】眼用の処方物の粘度増加剤としてよりしばしば提案されるポリ陰イオン性物質は、ヒアルロン酸 (またはその塩)、すなわちいくつかの人の組織および動物の組織に見つけられる多糖類である。水溶液中でかつ適当な濃度で、これは、自然の涙と極めて似た非ニュートン流れ特性を発揮する。たとえば、欧州特許第0323522号は、人工涙組成物の増粘剤としてヒアルロン酸ナトリウム (分子量は特定していない) を0.01-1重量%の濃度とすることを提案している。しかしながら、この場合も、提案される組成物は、ヒアルロン酸ナトリウム、塩化ナトリウム、防腐剤および緩衝剤 (含むとして) を本質的に含んでいるが、生理学的細胞代謝に必須のイオンを含んでいない。

【0010】ヒアルロン酸ナトリウムおよびさまざまな種類のイオンを含む水溶液は、欧州特許出願第04 14 373号に記載されている。しかしながら、該特許出願は、人工涙の製剤に関するものではなく、眼前部(eye anterior section)(白内障、角膜移植(keratoplasty)、線維柱帯切除術)および眼後部(eye posterior section)(網膜剥離、網膜障害)の微小血管外科手術の補助薬として眼の手術で用いられる粘弾性溶液に関するものである。眼の手術では、高分子量ヒアルロン酸ナトリウムは、粘弾性特性を有する生成物を得るようかなりの高濃度で用いられ、手術の間に、解剖学的眼空間(例えば、前室)の保持を確保し、しながら、解剖学的眼空間の崩壊を防ぐか、または眼の構造または膜(例えば、結膜からの強膜)の分離の崩壊を防ぎ、また、眼の組織を手術の障害(あった場合)から守ることが崩れるのを防ぐ。当該文献は、0.1~1.5重量%(好ましくは1~3重量%)の範囲のヒアルロン酸ナトリウムの濃度を述べているが、粘弾性溶液は、1%を超えるヒアルロン酸ナトリウム濃度で、少なくとも1,000,000ダルトンの分子量を有するようにしてのみ意图した用途に適する性質を有する。実際、当該特許出願に記載されているすべての実施態様では、ヒアルロン酸ナトリウム濃度は、3重量%である。

【0011】人工涙处方物に話題を戻すと、最も最近の米国特許第5,106,615号は、低濃度で非ニュートン性の増粘剤を含む角膜灌注用溶液が、その塩含量のために該非ニュートン運動を維持しないことを示している。特に、ここで考慮した米国特許は、塩化ナトリウム1リットル当たり2.5ミリモル、ヒアルロン酸ナトリウム溶液の非ニュートン運動を完全になし、カルシウムおよび恐らく他の二価の陽イオンがさらにより効果的であることを示している。したがって、該米国特許は、人工涙として用いる处方物であって、いずれの場合も、1~5ミリモル/1を超えない実際には無視できる量の塩(増粘剤の塩を別とする)を含む時の、ポリ陰イオン性増粘剤よりもたらされる非ニュートン流体の有利な流動学的特性を維持する处方物を請求の範囲としている。

|                  |                |                     |                |
|------------------|----------------|---------------------|----------------|
| $\text{Na}^+$    | 40~95 ミリモル/1   | $\text{Cl}^-$       | 50~150 ミリモル/1  |
| $\text{K}^+$     | 12~28 ミリモル/1   | $\text{HPO}_4^{2-}$ | 7~20 ミリモル/1    |
| $\text{Ca}^{2+}$ | 0.4~1.5 ミリモル/1 | クエン酸塩               | 0.7~2.5 ミリモル/1 |
| $\text{Mg}^{2+}$ | 0.4~1.0 ミリモル/1 | ヒアルロン酸塩             | 0.05~2重量%      |

任意には、ここに提案の处方物は、また、酢酸イオンおよび重量炭酸イオンさらに防腐剤としてEDTAを好ましくはそれぞれ最小限濃度として7ミリモル/1、5ミリモル/1および1ミリモル/1で含んでいてもよい。处方物のヒアルロン酸塩は、好ましくは、500,000~8,000,000ダルトン、典型的には500,000~4,000,000ダルトンの分子量を有するヒアルロン酸ナトリウムである。得られる製剤は、有利

る。米国特許第5,106,615号は、前記米国特許第4,409,205号およびPCT特許出願第84/04681号に記載の处方物が、過剰量の塩の存在により非ニュートン流れ特性を失うことがあることを示している。従来技術のいくつかの教示と対照的に、なんらかのイオン種の適当な量の存在は、涙膜病の正しい治療に不可欠であると思われるが、本発明の目的は、塩および正確には二価の陽イオン例えば $\text{Ca}^{2+}$ および $\text{Mg}^{2+}$ の存在下でも非ニュートン流れ特性を維持できる人工涙として使用する増粘した組成物を提供することである。

#### 【0012】

【課題を解決するための手段】したがって、本発明の目的は、ヒアルロン酸ナトリウムで増粘しており、 $\text{Na}^+$ および $\text{Cl}^-$ イオンばかりでなくさらに少なくとも $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ および $\text{HPO}_4^{2-}$ イオンをも含む低張性塩水であり、ポリマーの存在により生じた非ニュートン流れ特性が、塩の存在により否定的に影響されることのないよう方に適した低張性塩水を提供することである。その流動学的特性により、ここに提案される溶液は、高い角膜前滯留時間を示す。さらに、これは、乾性角膜炎によりおこされる病理学的状態を示すすべてのパラメーターを向上させることにより(下記に詳述してある)涙膜を著しく安定化させる。

【0013】したがって、本発明の特別な目的は、粘度増加剤としてヒアルロン酸塩を0.05~2重量%の濃度で含み、加えて次にミリモル/1で示した最少限量のイオン種: 4.0ミリモル/1のナトリウムイオン、1.2ミリモル/1のカリウムイオン、0.4ミリモル/1のカルシウムイオン、0.4ミリモル/1のマグネシウムイオン、5.0ミリモル/1の塩素イオンおよび7ミリモル/1のりん酸イオン、並びに水を含有してなる人工涙として用いる眼用の製剤を提供することである。

#### 【0014】

【発明の実施の形態】好ましくは、該製剤は、キレート剤、特に、少なくとも0.7ミリモル/1の量のクエン酸塩を含み、また、本発明の好ましい実施態様では、次の一般的な組成を有する:

|                  |                |                     |                |
|------------------|----------------|---------------------|----------------|
| $\text{Na}^+$    | 40~95 ミリモル/1   | $\text{Cl}^-$       | 50~150 ミリモル/1  |
| $\text{K}^+$     | 12~28 ミリモル/1   | $\text{HPO}_4^{2-}$ | 7~20 ミリモル/1    |
| $\text{Ca}^{2+}$ | 0.4~1.5 ミリモル/1 | クエン酸塩               | 0.7~2.5 ミリモル/1 |
| $\text{Mg}^{2+}$ | 0.4~1.0 ミリモル/1 | ヒアルロン酸塩             | 0.05~2重量%      |

に低張性であり、容量オスマル濃度14.0~28.0 mOsm/1、pH 6.8~7.6、剪断速度2秒<sup>-1</sup>で粘度1.0~2.000.0 cPs、剪断速度1,000秒<sup>-1</sup>で粘度1.0~5 cPs(32°Cで測定)である。

【0015】ヒアルロン酸塩の濃度は、分子量および必要な粘度にしたがって調整される。分子量も、所望の粘度と必要な塩類バランスが得られる限り上記に定めた値に関してわずかに変わり得る。イオン種の上記の規定し

た量と濃度は、ヒアルロン酸塩に存在するナトリウムイオンは含まない。したがって、それらは、ナトリウムイオンを除いたすべてのイオン種について眼用製剤に含まれるイオン種の全量に相当し、ナトリウムイオンの場合は、上記に規定した量と濃度は、ヒアルロン酸ナトリウムに含まれるものに加えたナトリウムの量に相当する。より少ないまたは（より多い）量のヒアルロン酸塩からのナトリウムの減少または（増加）を相殺するように、ヒアルロン酸ナトリウム以外のナトリウム塩（たとえば、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、りん酸ナトリウムまたはこれらの混合物の形態）の量を調整することによるヒアルロン酸塩の濃度の変化にもかかわらず。本発明の眼用溶液のナトリウムのバランスが保たれ得る。本発明の典型的な実施態様に従えば、ヒアルロン酸ナトリウムが、粘度増加剤として用いられ、所望のナトリウムイオン濃度を得るために追加の量のナトリウムイオンが塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウムおよびりん酸ナトリウムとして眼用の組成物に加えられる。

【0016】実際的な目的から、本発明の眼用の処方物に含まれるナトリウムイオンの全量は、典型的には、1リットル当り40～95ミリモル含まれる。pHは、イオン種の全量が本発明の範囲内にあるということを条件に、塩酸または塩基たとえば水酸化ナトリウムを必要に応じて加えることにより所望の値に調節することができる。本発明の人工涙は、適当な量の相応する成分を無菌水に混合するか、製剤をその配合後に滅菌することによ

り、従来の技術にしたがって調製される。本発明の処方物は、また、眼用の製剤に用いられるほかの慣用の成分、たとえば、ブドウ糖、防腐剤（たとえば、Thimerosal<sup>®</sup>）などを含んでもよい。ここに開示したクレームした眼用の処方物は、治療学上の性質および流動学上の性質の両方の観点から最も良好な処方物となる。下記に詳述するように、ここに提案の処方物は、比較的多い量の各種イオン種の存在にもかかわらずヒアルロン酸塩に基づく溶液に典型的な流動学的挙動を保持し、結膜囊に点滴し点滴の後、1時間半よりも長く生理学的レベルで済容量オスマル濃度を保つ。さらに、該処方物は、乾燥眼症候群の総合的症状を緩和し、シグ状結晶形成パターンおよび上皮細胞の形態と構造を向上させ、ムチン生成杯細胞の密度を増加させる。本発明の眼用の処方物の人の治療での一日の用量は、1つの眼当り1～2滴とし、一日に約4～8回投与する（たとえば、外径3mmの標準薬局方医療用ドロッパーの手段による：これは、垂直に持つと、25°Cで総重量0.9～1グラムとなる20滴の水を出す）。

## 【0017】

【実施例】本発明を、例に記載し図面に示した例示的実施態様を参照して以下にさらに詳述するが、本発明はそれらに限定されるものではない。

## 【0018】例1 一本発明の製剤の流動学的特性の評価と他の製剤との比較

下記の試験を行った、SVS 20と呼ぶ本発明の製剤は、次の組成を有していた：

|   | mg/100m l | ミリモル/l            |
|---|-----------|-------------------|
| ヒアルロン酸ナトリウム<br>(M.W. 800,000-1,600,000)               | 250       | 約6.2 <sup>1</sup> |
| NaCl  | 279.2     | 47.77             |
| KCl   | 103.3     | 13.85             |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O | 322.2     | 9.0               |
| Na <sub>3</sub> クエン酸塩                                 | 26.0      | 1.05              |
| MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O                 | 9.2       | 0.45              |
| CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O                 | 6.9       | 0.6               |

1:ヒアルロン酸ナトリウム中に存在するナトリウムイオン

pH = 7.32および容量オスマル濃度 = 150mOs/m l；粘度 = 28cps（剪断粘度2秒<sup>-1</sup>）

該製剤の流動学的挙動を、ヒアルロン酸で増粘しかつNa<sup>+</sup>およびCl<sup>-</sup>以外のイオン種の認められる量を含ま

ヒアルロン酸ナトリウム  
(M.W. 800,000-1,600,000)

NaCl

粘度 = 剪断速度2秒<sup>-1</sup>で22cps

製剤の臨床的の使用の条件をシミュレートするため眼表面温度32°Cで、mPa.sで表した粘度を剪断速度(秒<sup>-1</sup>)に対してプロットしたそれぞれの流れ曲線(図1)を測定した。測定は、次の特徴：

-同軸円筒メータC1BC-真(coaxial cy

ない別の人工涙製剤の流動学的挙動と比較する見地から、マッチング製剤を、歐州特許出願第0323522号に従いつくりあげ、S09とした：これは、次の組成を有した：

250mg/100ml

0.9重量%

linders meter C1BC-true)  
-トーションバー1.59g.cm  
-剪断速度範囲2-1000秒<sup>-1</sup>  
を有するBohlin Rheometer System粘度計を用いて行った。

【0019】図1の曲線は、両方の処方物の粘度が、剪

断応力速度に依存する、すなわち非ニュートン挙動に従う（これに対し、例えば、非イオン性のポリマーにより増粘した処方物の粘度は、一定であり、したがって、その图形はほぼ平坦となろう）が、この特徴が、本発明の処方物により顕著であることを明瞭に示している。したがって、本発明の処方物は、1リットル当り25ミリモルを超える量のNaCl、並びにNa<sup>+</sup>に加えてK<sup>+</sup>イオンおよび二価の陽イオン例えばCa<sup>++</sup>およびMg<sup>++</sup>を含むが、米国特許第5,106,625号の教示とは逆に、その非ニュートン特性を失わず、塩類の種として塩化ナトリウムだけを含む処方物よりもさらに良好な非ニュートン挙動を示す。

【0020】例2-臨床試験およびヒドロキシプロピルメチルセルロースにより増粘した溶液との比較  
例1（SVS20）に記載したように処方した本発明の単一用量の無菌の眼用溶液を用いて臨床試験を行い、唯一の塩類の種として塩化ナトリウムをかなり量含み非イオン性の試薬、すなわちヒドロキシプロピルメチルセルロースで増粘した商業的な多用量点眼薬（商品名IS

OPTO TEARS<sup>®</sup> でALCONにより売られてる点眼薬で、以下DCと呼ぶ）（DC組成物：ヒドロキシプロピルメチルセルロース（4,000cps）0.5%；塩化ナトリウム0.1%；塩化ベンザルコニウム0.01%；緩衝剤）と前記の溶液との間で比較した。乾性角結膜炎の220人の患者に臨床試験を行った。そのうちの15人は途中で脱落したので試験を完了しなかった。調査を完了した残りの205人の患者（189人は女で16人は男）を、本発明の製剤（SVS20）および従来技術の製剤（DC）で、60日間にわたり1日に6回無作為に治療した。典型的な乾燥眼症候群、すなわち、疼痛、羞明、異物感および痛みを、すべての患者で評価し、0（症候なし）-4（重い症候）の評点を与えた。評価は、2種の製剤について治療前と15日、30日および60日の治療後に行った。上記の症候群の2つの試験の結果を表1および2に示し、対応する値を添付の図2-5に示した。

【0021】

【表1】

表1  
眼の総体的症状の試験-疼痛（%）

| 症候       | 基本的   |    | 15日   |    | 30日   |    | 60日   |    |
|----------|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|
|          | SVS20 | DC | SVS20 | DC | SVS20 | DC | SVS20 | DC |
| 4:非常に激しい | 2     | 2  | 0     | 0  | 0     | 0  | 0     | 0  |
| 3:激しい    | 37    | 27 | 1     | 4  | 0     | 0  | 0     | 0  |
| 2:中程度    | 37    | 45 | 26    | 41 | 2     | 15 | 2     | 9  |
| 1:軽い     | 17    | 19 | 50    | 40 | 43    | 54 | 22    | 42 |
| 0:なし     | 7     | 7  | 23    | 15 | 55    | 31 | 76    | 49 |

【0022】

表2  
眼の総体的症状の試験-異物感（%）

| 症候       | 基本的   |    | 15日   |    | 30日   |    | 60日   |    |
|----------|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|
|          | SVS20 | DC | SVS20 | DC | SVS20 | DC | SVS20 | DC |
| 4:非常に激しい | 6     | 3  | 0     | 0  | 0     | 0  | 0     | 0  |
| 3:激しい    | 20    | 17 | 1     | 4  | 0     | 2  | 0     | 3  |
| 2:中程度    | 28    | 42 | 13    | 35 | 2     | 15 | 0     | 6  |
| 1:軽い     | 35    | 30 | 49    | 35 | 30    | 49 | 16    | 37 |
| 0:なし     | 11    | 8  | 37    | 26 | 68    | 34 | 84    | 54 |

【0023】すべての上記のデータは、セルロースに基づく製剤と比較して、本発明の製剤が、主観的総体的症状でのより迅速で著しい向上をもたらす証拠を与える。同じ患者で試験をし、涙膜崩壊時間（BUT）および涙液分泌（シルマーI）さらには2%フルオレセインと1

%ローズベンガルでの角膜結膜表面染色の平均値を評価し、評点1-8を与えた。該比較検査の結果を表3と添付の図6-9の図に示した。

【0024】

【表3】

表3  
涙液の機能と安定性および角膜結膜表面結合性の試験

| 試験 (単位)  | 基本的       | 15日       | 30日       | 60日        |  |  |  |
|----------|-----------|-----------|-----------|------------|--|--|--|
|          | SVS20 DC  | SVS20 DC  | SVS20 DC  | SVS20 DC   |  |  |  |
| BUT(秒)   | 3.12 3.51 | 5.87 4.91 | 7.15 5.74 | 8.64 6.4   |  |  |  |
| シルマー I   |           |           |           |            |  |  |  |
| mm/5分    | 3.87 3.74 | 7.3 4.88  | 9.55 6.16 | 10.68 6.27 |  |  |  |
| フルオレシン,  |           |           |           |            |  |  |  |
| 評点       | 4.95 5.01 | 2.21 3.62 | 1.14 2.57 | 0.36 1.3   |  |  |  |
| ローズベンガル, |           |           |           |            |  |  |  |
| 評点       | 4.92 5.06 | 2.29 3.69 | 1.21 2.42 | 0.38 1.45  |  |  |  |

【0025】すべての上記の試験は、従来技術の製剤D Cによる治療と比較して、本発明の製剤による治療が、考慮される病状のより迅速で著しい改善をもたらすことを立証している。

【0026】上記した一般的な臨床試験を行ったほかに、患者を2つのグループに分けた。113人からなる第1のグループには調査の初めと、15日、30日および60日の治療の後に涙液容量オスモル濃度試験を行った。値は、点眼剤点滴後30分および90分に記録した。容量オスモル濃度測定の涙サンプルは、マイクロ細

管ビペットを用い、反射流涙を防ぐ技術に従って取った。容量オスモル濃度は、適当に改造した凝固点浸透圧計Osmomat 30 (Gonotec, Berlin, Germany)により測定した。比較した2つの薬剤により治療した2つのグループの患者で記録した平均容量オスモル濃度値を次の表4と、添付の図1および111に示す。

【0027】

【表4】

表4  
涙の容量オスモル濃度平均値 (mOsm/l)

| 点滴からの時間 | 基本的      | 15日      | 30日      | 60日      |  |  |
|---------|----------|----------|----------|----------|--|--|
|         | SVS20 DC | SVS20 DC | SVS20 DC | SVS20 DC |  |  |
| 30分     | 353 350  | 301 338  | 303 340  | 304 340  |  |  |
| 90分     | 354 350  | 306 346  | 311 347  | 312 347  |  |  |

【0028】第2のグループの92人の患者には、印象による細胞診断 (cytology) と涙シグ状結晶形成パターン試験を行った。前者の試験は、調査の開始時と、60日の治療の後と、D. J. Nelson, Cornea, 7 (1), 71-81 (1988) により記載された方法に従い、涙シグ状結晶形成パターンは、調査開始時と、15日、30日および60日の治療の後、最後の点眼点滴の後60分と90分で試験した。後者の試験は、M. Roland et a

l., Forstchr. Ophthalm., 8 3, 644-646, 1986により記載のようにして行った。第2のグループの患者に行った試験の結果を、下記の表5および6にまとめ、添付の相当する図12-15および16-19に示した。本明細書において、基本的な値は治療前に記録された値を意味する。

【0029】

【表5】

表5  
結膜細胞診断 (%)

| 上皮細胞形態構造   | 基本的   |    | 60日   |    |
|------------|-------|----|-------|----|
|            | SVS20 | DC | SVS20 | DC |
| 角質化した表面    | 17    | 11 | 8     | 9  |
| 角質化していない表面 | 26    | 20 | 11    | 33 |
| 立方体        | 41    | 49 | 41    | 36 |
| 円筒形        | 16    | 20 | 30    | 22 |
| 杯細胞密度      |       |    |       |    |
| なし         | 23    | 4  | 3     | 9  |
| まれ         | 50    | 40 | 32    | 29 |
| 中程度        | 27    | 36 | 52    | 47 |
| 多数         | 0     | 20 | 13    | 15 |

【0030】

【表6】

表6  
涙液粘液シダ状結晶形成 (%)

| 30分        | 基本的   |     | 15日   |    | 30日   |    | 60日   |    |
|------------|-------|-----|-------|----|-------|----|-------|----|
|            | SVS20 | DC  | SVS20 | DC | SVS20 | DC | SVS20 | DC |
| タイプ III+IV | 100   | 100 | 30    | 71 | 26    | 32 | 9     | 36 |
| タイプ I+II   | 0     | 0   | 70    | 29 | 74    | 58 | 91    | 64 |
| 90分        |       |     |       |    |       |    |       |    |
| タイプ III+IV | 100   | 100 | 44    | 67 | 26    | 36 | 23    | 23 |
| タイプ I+II   | 0     | 0   | 56    | 33 | 74    | 64 | 77    | 77 |

【0031】本発明の製剤で処理したサンプルに見られる杯細胞の増加並びに上皮細胞形態構造とシダ状結晶形成パターンとの向上は、セルロースに基づく製剤で処理したサンプルにおいて観察されるよりも良い。

【0032】例3-臨床試験および例1に従いヒアルロン酸ナトリウムにより増粘した溶液との比較

乾性角結膜炎の24人の患者への二重盲検を与える実験プランにしたがって行ったさらに2か月間の調査の過程

で、本発明の点眼剤SVS20の効果を、例1に従う製剤S09に対応する塩化ナトリウムのみを含む涙液原流体と等浸透性のヒアルロン酸ナトリウムの即席單一用量

0.25%溶液の効果と比較した。両方の生成物を、1日6回、1滴／眼の用量割合として投与した。得られた結果は、製剤SVS20が、点滴から90分までの生理

学的レベルに涙液容量オスモル濃度をさせ、角膜前膜を安定化させ、BUTおよびシルマーI値を著しく増加させ、上皮細胞の形態構造および杯細胞の密度を顕著に向上させるのに効果的であることを示した。逆に、S09により治療した患者では、容量オスモル濃度は、病理学的限界以内のままであり、細胞学的な検査は、60日の治療の後、基本的な対照と比較して結膜表面はほとんど修正されないことを示した。

【0033】例2に記載されたように行った涙液容量オスモル濃度測定の結果を下記の表7および添付の図20および21に示した。

【0034】

【表7】

表7  
涙の容量オスマル濃度平均値 (O s m / l)

| 点滴からの時間 | 基本的 | 15日 | 30日 | 60日 | SVS20 | S09 | SVS20 | S09 | SVS20 | S09 | SVS20 | S09 |
|---------|-----|-----|-----|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| 30分     | 345 | 348 | 310 | 335 | 305   | 340 | 295   | 335 | 300   | 345 | 300   | 345 |
| 90分     | 345 | 348 | 320 | 340 | 315   | 340 | 300   | 345 | 300   | 345 | 300   | 345 |

【0035】例2に記載したように行った細胞学的検査の結果を、下記の表8および添付の図22-25に示してある。

表8  
結膜細胞診断 (%)

| 組織密度       | 基本的   |     | 60日   |     |
|------------|-------|-----|-------|-----|
|            | SVS20 | S09 | SVS20 | S09 |
| なし         | 50    | 58  | 17    | 42  |
| まれ         | 34    | 17  | 33    | 42  |
| 中程度        | 8     | 17  | 25    | 8   |
| 多数         | 8     | 8   | 25    | 8   |
| 上皮細胞形態構造   |       |     |       |     |
| 角質化した表面    | 42    | 50  | 25    | 42  |
| 角質化していない表面 | 50    | 25  | 17    | 33  |
| 立方体        | 4     | 17  | 33    | 17  |
| 円筒形        | 4     | 8   | 25    | 8   |

【0037】上記の臨床試験の結果は、生理学的な細胞代謝に必須なイオンを含む眼形剤中にヒアルロン酸ナトリウムを用いて处方した点眼剤SVS20が、涙膜を著しく安定化させ、角膜前環境に定性的一定量の平衡を回復させ、それにより上皮細胞が生理学的機能的状態と形態的状態に変質するのを防ぎ、杯細胞が高い密度を達成するのを防ぐことを示唆する。

【0038】ヒアルロン酸ナトリウムのように、非ニュートンボリマーの存在は、涙膜を安定化させ、涙の蒸発を遅らせ、まばたきの間にまぶたにより生じる摩擦応力の眼表面への伝達を減少させ、そして十分に許容される。本発明を、いくつかのその例示的な実施態様に特に関連して説明した。しかしながら、変形および変更が、本発明の範囲から逸脱することなく当業者に可能であろう。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の製剤とE P - 0 3 2 3 5 2 2 に従う増粘した生成物との、剪断速度の関数としての粘度の流れ曲線である。

【図2】本発明の製剤および従来技術の上記商品を用いて得られた眼の痛みへの臨床的試験の結果を示すグラフである。

【図3】本発明の製剤および従来技術の上記商品を用いて得られた眼の痛みへの臨床的試験の結果を示すグラフである。

【図4】本発明の製剤および従来技術の上記商品を用いて得られた異物感への臨床的試験の結果を示すグラフである。

【図5】本発明の製剤および従来技術の上記商品を用いて得られた異物感への臨床的試験の結果を示すグラフである。

【図6】本発明の製剤および従来技術の上記商品を用いて得られた涙膜破壊時間 (B U T) への試験の結果を示すグラフである。

【図7】本発明の製剤および従来技術の上記商品を用いて得られた涙分泌 (シルマー I) への試験の結果を示すグラフである。

【図8】本発明の製剤および従来技術の上記商品を用いて得られたフルオレセインによる染色試験の結果を示すグラフである。

【図9】本発明の製剤および従来技術の上記商品を用いて得られたローズベンガルによる染色試験の結果を示すグラフである。

【図10】本発明の製剤および従来技術の上記商品を用

いて得られた、最後の点滴後それぞれ30分および90分における、涙の容量オスモル濃度測定の結果を示すグラフである。

【図11】本発明の製剤および従来技術の上記商品を用いて得られた、最後の点滴後それぞれ30分および90分における、涙の容量オスモル濃度測定の結果を示すグラフである。

【図12】本発明の製剤による、また、従来技術の上記商品による治療の前後の上皮細胞の形態学的分布を示すグラフである。

【図13】本発明の製剤による、また、従来技術の上記商品による治療の前後の上皮細胞の形態学的分布を示すグラフである。

【図14】本発明の製剤による、また、従来技術の上記商品による治療の前後の杯細胞の密度分布を示すグラフである。

【図15】本発明の製剤による、また、従来技術の上記商品による治療の前後の杯細胞の密度分布を示すグラフである。

【図16】本発明の製剤の、また、従来技術の上記商品の点滴30分後の涙液粘液シグ状結晶形成試験の結果を示すグラフである。

【図17】本発明の製剤の、また、従来技術の上記商品の点滴30分後の涙液粘液シグ状結晶形成試験の結果を示すグラフである。

【図18】本発明の製剤の、また、従来技術の上記商品

の点滴90分後の涙液粘液シグ状結晶形成試験の結果を示すグラフである。

【図19】本発明の製剤の、また、従来技術の上記商品の点滴90分後の涙液粘液シグ状結晶形成試験の結果を示すグラフである。

【図20】最後の点滴30分後および90分後、図1に従う、本発明の製剤および従来技術の製品を用いて得られた涙の容量オスモル濃度測定の結果を示すグラフである。

【図21】最後の点滴30分後および90分後、図1に従う、本発明の製剤および従来技術の製品を用いて得られた涙の容量オスモル濃度測定の結果を示すグラフである。

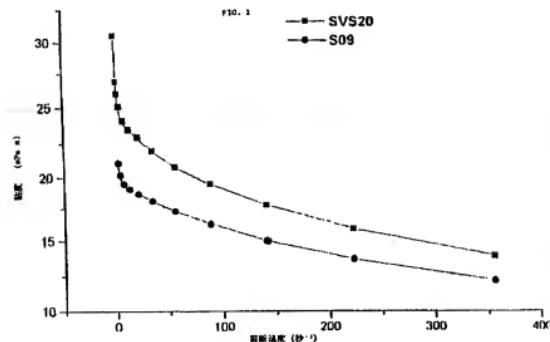
【図22】図1に従う、本発明の製剤によるまたは従来技術の上記商品による治療の前後の杯細胞の密度分布を示すグラフである。

【図23】図1に従う、本発明の製剤によるまたは従来技術の上記商品による治療の前後の杯細胞の密度分布を示すグラフである。

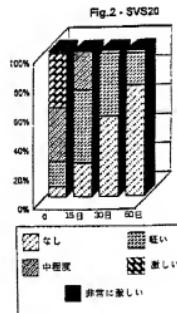
【図24】図1に従う、本発明の製剤によるまたは従来技術の上記商品による治療の前後の上皮細胞の形態学的分布を示すグラフである。

【図25】図1に従う、本発明の製剤によるまたは従来技術の上記商品による治療の前後の上皮細胞の形態学的分布を示すグラフである。

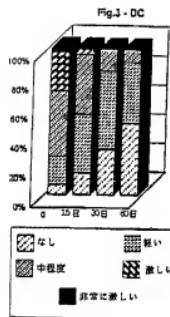
【図1】



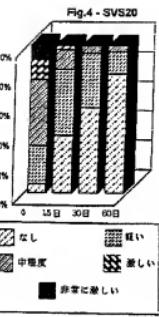
【図2】



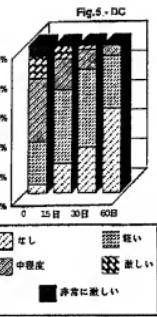
【図3】



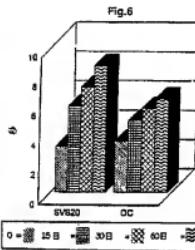
【図4】



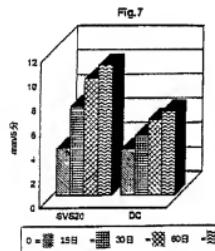
【図5】



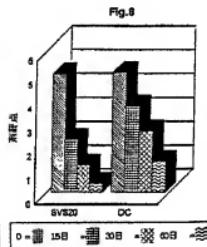
【図6】



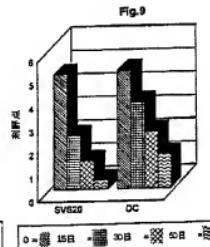
【図7】



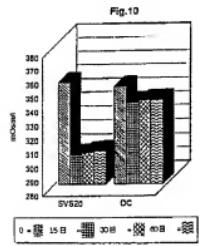
【図8】



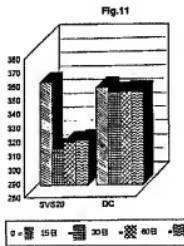
【図9】



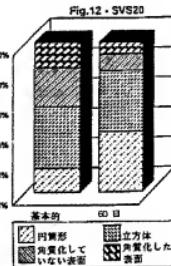
【図10】



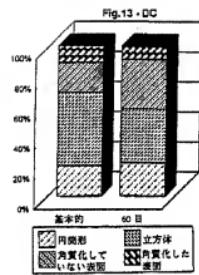
【図11】



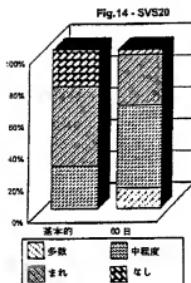
【図12】



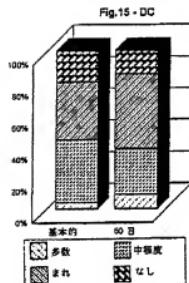
【図13】



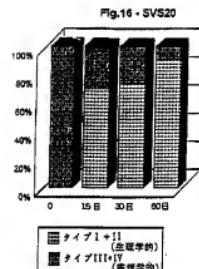
【図14】



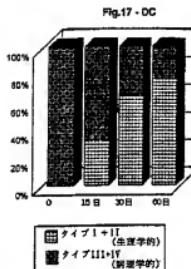
【図15】



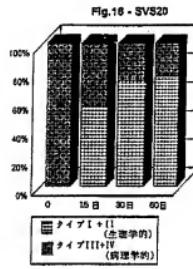
【図16】



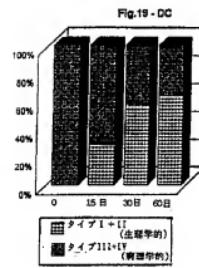
【図17】



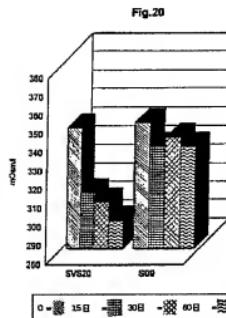
【図18】



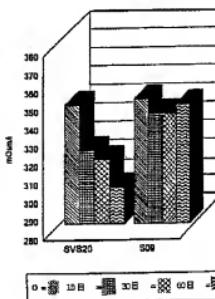
【図19】



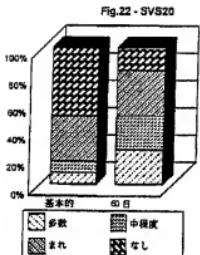
【図20】



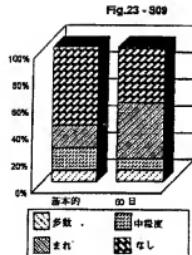
【図21】



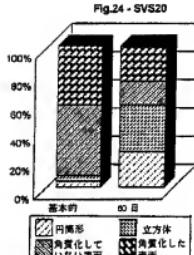
【図22】



【図23】



【図24】



【図25】

